

昆虫普通气味结合蛋白研究进展

张雪^{1,2}, 黄聪², 武强², 杨念婉³, 钱万强², 万方浩^{1,2*}

¹青岛农业大学植物医学学院, 山东青岛 266109; ²中国农业科学院深圳农业基因组研究所, 广东深圳 518120; ³中国农业科学院植物保护研究所植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193

摘要: 昆虫气味结合蛋白(OBPs)参与昆虫识别环境中气味信息的第一步反应,在调控昆虫生命活动中起着重要的作用。普通气味结合蛋白(GOBPs)主要参与昆虫对寄主植物挥发物或信息素的识别。本文总结了 GOBPs 基因的分子特征和生理功能,以及 GOBPs 基因在不同组织、性别和发育阶段的表达特性;针对 GOBPs 与性信息素结合蛋白(PBPs)在染色体上串联形成的 GOBPs/PBPs 亚家族基因簇,阐述了 GOBPs 基因的进化起源、扩增与丢失现象;梳理了昆虫 GOBPs 基因在虫情监测和害虫防治等方面的应用前景,提出 GOBPs 基因是未来害虫生物防治的重要靶点。

关键词: 普通气味结合蛋白; 害虫防治; 表达特性; 生理功能



开放科学标识码
(OSID 码)

Advances in the study of general odorant binding proteins in insects

ZHANG Xue^{1,2}, HUANG Cong², WU Qiang², YANG Nianwan³, QIAN Wanqiang², WAN Fanghao^{1,2*}

¹ College of Plant Health and Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China;

² Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen, Guangdong 518120, China;

³ State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Abstract: Insect odorant binding proteins (OBPs) play an important role in the regulation of insect life activities by participating in the first reaction of environment-chemical information recognition. General odorant binding proteins (GOBPs) are mainly involved in the combination with host plant volatiles and insect pheromones. In this paper, we introduced the molecular characteristics, physiological functions, as well as the expression profiles of GOBP gene in different tissues, sexes and developmental stages. Considering the tandem gene clusters of GOBPs/PBPs complex in the specific position of chromosome, we elaborated the evolutionary origin, expansion and contraction of GOBPs. The prospects of insects GOBPs in the application of monitoring and managing insect pests were summarized, indicating that GOBPs will be important targets in innovating novel control technologies.

Key words: general odorant binding proteins; pest control; expression characteristics; physiological function

昆虫是地球上数量最多、种类最丰富的动物类群。多数昆虫在寻找栖境、觅食、交配以及产卵等过程中,依靠嗅觉系统识别外部环境中的各种化学信息物质,包括寄主植物产生的挥发性气味物质(volatile organic compounds, VOCs)和昆虫产生的信息素(pheromone)等,进而引起相应的行为反应(Martin *et al.*, 2011)。昆虫对气味分子的识别主要由位于触角上的嗅觉感器完成,气味分子通过嗅觉

感器上的小孔进入感器淋巴腔内,并与水溶性的气味结合蛋白(odorant binding proteins, OBPs)结合,形成气味结合蛋白-气味分子复合体,随后被运送至嗅觉神经元树突膜上的气味受体(olfactory receptor, ORs)或离子型受体(ionotropic receptor, IRs)并使之激活,引起膜电位发生变化并刺激神经,经轴突传到中枢神经系统,大脑整合后发出指令,从而引发相应的嗅觉行为反应(Benton *et al.*, 2009;

收稿日期(Received): 2020-09-11 接受日期(Accepted): 2020-11-06

基金项目: 中国博士后科学基金(2020M672906; 2020M683001); 深圳市孔雀团队项目(KQTD20180411143628272); 国家自然科学基金(31672087)

作者简介: 张雪,女,硕士研究生。研究方向:资源利用与植物保护。E-mail: 17854223861@163.com

* 通信作者(Author for correspondence), E-mail: wanfanghao@caas.cn

Vogt & Riddiford, 1981)。其中,OBPs 是一类主要存在于触角感器内的小分子量的球状蛋白,具有数量多、水溶性和偏酸性等特点 (Vogt *et al.*, 2002), 在昆虫嗅觉活动中发挥重要作用 (Sun *et al.*, 2018; Zwiebel & Takken, 2004)。气味分子通过触角感器表面的孔和孔道进入到触角感器淋巴液,然而脂溶性的气味分子不能直接穿过亲水性的淋巴液,此时 OBPs 承担起运载气味化合物的角色,该过程是昆虫识别环境气味物质的第一步生理反应 (Vogt & Riddiford, 1981),在昆虫与外界进行信息交流活动中具有重要意义 (纪萍等, 2013; Vosshall & Stensmyr, 2005)。

Vogt & Riddiford (1981) 利用同位素标记的方法,在多音天蚕 *Antheraea polyphemus* (Cramer) 雄蛾的触角中鉴定出信息素结合蛋白 (pheromone binding protein, PBP),这是首个被鉴定的 OBPs 家族成员。Breer *et al.* (1990) 研究发现了另一类结合植物源气味的 OBPs,并命名为普通气味结合蛋白 (general odorant binding proteins, GOBPs),其中根据氨基酸序列的差异,GOBPs 又分为 GOBPs I 和 GOBPs II (刘柳, 2019; 任珍珍等, 2010)。随着研究的深入,科学家们又发现一类触角特异蛋白 (antennal specific proteins, ASPs),这类蛋白最初在西方蜜蜂 *Apis mellifera* L. 中发现,包括触角特异蛋白 ASP1 和 ASP2 (Danty *et al.*, 1998)。研究发现,并非所有 OBPs 都是嗅觉所必需的,如在果蝇 *Drosophila melanogaster* 中,即使在敲除某些感器上的 OBPs 的情况下,这些感器仍可以对气味作出反应 (Xiao *et al.*, 2019),但对于鳞翅目昆虫尤其是蛾类昆虫来说,GOBPs 在其嗅觉中不可或缺 (Huang *et al.*, 2018; Khuhro *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2019),说明 GOBPs 在鳞翅目蛾类昆虫嗅觉行为中起到至关重要的作用。起初,人们认为 GOBPs 只与植物挥发物等普通气味分子结合,然而随着昆虫基因组和转录组测序技术的发展,越来越多的 GOBPs 被鉴定出来,GOBPs 的功能也被深入研究,人们发现,GOBPs 不仅可与植物挥发物结合,也能够与性信息素分子发生结合,甚至结合能力高于 PBPs (Acin *et al.*, 2009; Gong *et al.*, 2006; Pelosi *et al.*, 2006)。本文从 GOBPs 的分子特征、表达特性、生理功能、进化,以及在害虫防治中的应用等方面进行了综述,以期对 GOBPs 的功能研究以及 GOBPs 作为靶标在害虫监

测及防治方面提供一些参考建议。

1 GOBPs 的分子和结构特征

昆虫 GOBPs 的分子质量为 16.0~17.2 kD,氨基酸序列在 140~150 位氨基酸,大部分 GOBPs 具有 N-信号肽 (20 个氨基酸左右),等电点为 4.9~5.1 (缪森等, 2003);一般都具有 6 个保守的半胱氨酸 (Cys),并通过特定的组合方式形成 3 对二硫键,形成稳定的蛋白结构,且二硫键形成的 α 螺旋疏水结合腔可以调控普通气味分子的结合与释放,这种 6-Cys 模式已经成为昆虫 OBPs 的“典型特征” (Pelosi *et al.*, 2014)。研究发现,鳞翅目昆虫 GOBPs 二级结构大都包含 7 个 α 螺旋、2 个 3_{10} -螺旋和 2 个 β 转角,二级结构较为相似 (图 1) (张升祥等, 2010a);与 PBP 相比,鳞翅目昆虫不同种同一类型 GOBP 间有较高的氨基酸相似性,而 GOBP1 与 GOBP2 之间则有较低的氨基酸相似性 (50%左右),但 GOBPs 和 PBPs 之间序列一致性更低 (<50%) (刘乃勇, 2015)。

明确蛋白质及其复合物的三维结构是从蛋白质分子水平上进行功能研究的前提。X-射线晶体学、核磁共振和冷冻电镜三维重构技术是当前研究蛋白质三维结构的主要技术,昆虫 OBPs 的三维结构常用 X-射线晶体学、核磁共振这 2 种方法进行解析, Sandler *et al.* (2000) 首次采用 X-射线晶体学获得了家蚕 *Bombyx mori* L. 与蚕蛾醇 bombykol 的 BmorPBP1-bombykol (pH 8.2) 复合晶体结构 (图 2),随后 BmorGOBP2 的晶体结构也被解析出来 (Zhou *et al.*, 2009),其三级结构由 N-端、 α -螺旋、Loop 环和 C 端形成一个疏水性的结合腔 (图 1),这些结构特征与 BmorPBP 晶体结构类似。目前,鳞翅目、膜翅目、双翅目、直翅目、半翅目、脉翅目、蜚蠊目等多种昆虫 OBPs 的单体或复合结构已相继被解析出来 (杜亚丽等, 2020)。

OBPs 的功能与其拓扑结构密切相关,且受 pH 值的调控,如 BmorPBP 在 pH 值较低时,C 链末端会额外构成 1 个 α -螺旋,同时占据结合腔的内部,挤出气味分子;当 pH 值为中性时,C 链末端又会变得疏松,此时气味分子可进入结合腔 (Horst *et al.*, 2001; Leal *et al.*, 2005)。与 BmorPBP 不同,在 pH 值为中性时,BmorGOBP2 的 C 端形成一个规则的 α -螺旋,这个螺旋位于结合腔的表面,不占据结合腔。通过与配体结合测定,以及 X-射线晶体衍射分析表明,BmorGOBP2 能与性信息素组分蚕蛾醇有较强结合力

(图1), BmorGOBP2 中的精氨酸残基 (Arg110) 和蚕蛾醇形成氢键, 而 BmorPBP 则是丝氨酸残基 (Ser56) 参与氢键的形成 (Zhou *et al.*, 2009)。这表明 GOBPs 与 PBP 具有相似的三维结构特征, 但在与配体结合过程中, 两者在结构变化方面存在差异。

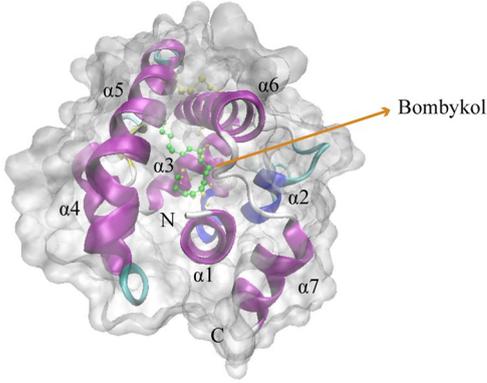


图1 家蚕 BmorGOBP2-bombykol 晶体结构示意图 (修改自 Zhou *et al.*, 2009)

Fig.1 Schematic diagram of crystal structure of BmorGOBP2-bombykol (revised from Zhou *et al.*, 2009)

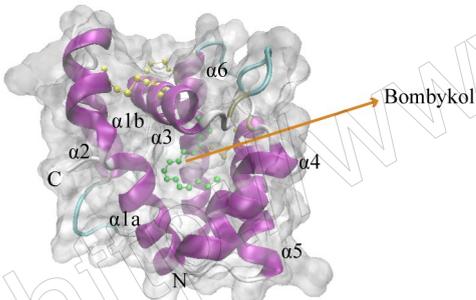


图2 家蚕 BmorPBP-bombykol 晶体结构示意图 (修改自 Sandler *et al.*, 2000)

Fig.2 Schematic diagram of crystal structure of BmorPBP-bombykol (revised from Sandler *et al.*, 2000)

2 GOBPs 的表达特性

2.1 GOBPs 在不同组织中的表达

昆虫的 OBPs 主要存在于触角感器中, 而位于不同类型感器中的 OBPs 与其功能分化有关。感受信息素的 PBP 主要位于毛形感器上; 而感受普通气味分子的 GOBPs 主要位于锥形感器上 (Sun *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020), 其中, GOBP1 多存在于毛形和锥形感器, 而 GOBP2 主要存在于锥形感器内 (Steinbrecht, 1996; Zhang *et al.*, 2001), 但在雌蛾的毛形感器内, 2 种 GOBPs 均存在 (Laue *et al.*, 1994)。此外, 也有研究表明昆虫的 GOBPs 表达于头部的其他附属器官, 如下唇须和下颚须, 以及足、外生殖器、腹部等组织。然而, 昆虫的 GOBPs 在上述不同组织

中的表达存在差异, 如沙棘木蠹蛾 *Eogystia hippophaecolus* (Hua, Chou, Fang et Chen) 雄成虫的 EhipGOBP1 与 EhipGOBP2 在触角中表达最高, 下唇须次之, 足与外生殖器表达量相当 (刘柳, 2019; Hu *et al.*, 2016); 苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (L.) 的 CpomGOBP2 和 CpomGOBP3 除在触角中表达外, 在口器、雌性成虫的腹部末端也有明显表达 (Garczynski *et al.*, 2013); 斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (Fabricius) 的 SlitGOBP2 在雌、雄虫触角中的表达水平最高, 在身体其他部位如足、翅膀、口器中也有分布 (郭晓洁等, 2018)。由于 OBPs 表达量高低与其功能密切相关, 因此, 这些在不同组织中差异表达的 GOBPs 预示着具有不同的生理功能, 如沙棘木蠹蛾的 EhipGOBP1 在外生殖器中表达, 表明它们可能参与性信息素的释放 (刘柳, 2019; Li *et al.*, 2020); 斜纹夜蛾的 SlitGOBP2 雄虫各部位的表达量除触角和中足外, 均低于雌虫相应部位的表达量, 暗示雌虫 SlitGOBP2 蛋白可能还具有感受其他特殊信息素的功能 (郭晓洁等, 2018); 小地老虎 *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) 的 AipsGOBP1 和 AipsGOBP2 在触角中高表达, 实验证实这 2 个基因能同时结合其信息素和寄主植物挥发物成分 (Huang *et al.*, 2018)。

2.2 GOBPs 的性别差异表达

GOBPs 一般在雌性昆虫触角中的表达量较高 (Laue *et al.*, 1994; Steinbrecht *et al.*, 1995)。然而, 不同科的鳞翅目昆虫 GOBPs 在两性触角中的表达模式存在差异 (刘乃勇, 2015)。夜蛾科昆虫的 2 个 GOBPs 主要偏雌性高表达, 如小地老虎的 AipsGOBP1 和 AipsGOBP2 在雌性触角中的表达量比雄性中更高 (黄广振, 2019); 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 的 2 个 HarmGOBPs 也均表现为雌性触角高表达 (Zhang *et al.*, 2011)。然而, 非夜蛾科昆虫的 GOBPs 在两性间的表达偏好性比较多样, 而且在不同种间的 GOBPs 的表达也具有不同的性偏好特性。如梨小食心虫 *Grapholitha molesta* (Busck) 的 GmolGOBP1 在雄性触角中表达高于雌性, 而 GmolGOBP2 在雌性触角中表达高于雄性 (Zhang *et al.*, 2012); 桃小食心虫 *Carposina sasakii* Matsumura 的 CsasGOBP1 在雄虫触角中的表达量显著高于雌虫, 但 CsasGOBP2 在雌性触角中的表达量更高 (Tian *et al.*, 2019); 荔枝蒂蛀虫 *Conopomorpha sinensis* Bradley 的 CsinGOBP1 在雌雄触角表达量相

似,而 CsinGOBP2 具有雄性偏向表达,雄性触角的转录水平是雌性的 2 倍以上(Yao *et al.*, 2016)。

2.3 GOBPs 在不同发育阶段的表达

GOBPs 的表达与昆虫的虫态、成虫日龄等不同发育状态有关。如斜纹夜蛾 SlitGOBP2 在 1~4 龄幼虫和蛹后期均有表达,且在 1 龄幼虫和蛹后期表达量相对较高,而在卵期、5 龄和 6 龄幼虫期等取食量相对较少的时期基本不表达(郭晓洁等, 2018),这可能暗示着 SlitGOBP2 蛋白可能参与其寻找产卵场所、取食和寄主定位等生命活动。雌性大螟 *Sesamia inferens* (Walker) 随着成虫日龄的增加,2 个普通气味结合蛋白 SinfGOBP1 和 SinfGOBP2 的表达量上调(金俊彦等, 2014);家蚕成虫期时 BmorGOBP1 和 BmorGOBP2 在触角的表达量大于在蛹期时触角中的表达量(张升祥等, 2010a);小地老虎的 AipsGOBP1 和 AipsGOBP2 都是在成虫羽化前的第 3 天开始表达,且分别在羽化后第 3 天和第 4 天表达达到最高水平(黄广振, 2019)。因此,昆虫处于不同的发育时期,其对取食、寄主定位和产卵等方面的需求不同,GOBPs 的表达也不尽相同。

此外,昆虫在不同的生理状态下 GOBPs 的表达量也不尽相同。如交配后的小地老虎 AipsGOBP1 和 AipsGOBP2 在雌性触角中的表达量上调,但在雄性触角中的表达量却下调。光照对昆虫 GOBP 表达量也会产生一定影响,如梨小食心虫在光周期中一直被检测到表达 GmolGOBP1 和 GmolGOBP2,在整个光周期中,GmolGOBP1 的表达量在雄性中一直高于雌性;在光照前期,GmolGOBP2 的表达量雄性高于雌性,但在暗期和光期末期,其表达量发生了明显变化,表现为雌性高于雄性(Zhang *et al.*, 2012)。综上,昆虫 GOBPs 的表达会受到昆虫生命活动以及外界环境的影响而改变,这种随着昆虫发育阶段和生理状态的变化而改变,使得昆虫能够更好地适应环境以及自身生理状态的改变。

3 GOBPs 的生理功能

昆虫的 GOBPs 在与植物化学信号物质的结合中起着主要作用,通过对多种鳞翅目昆虫 GOBPs 的功能研究,发现其主要识别寄主植物挥发物。如豆荚螟 *Maruca vitrata* (Fabricius) MvitGOBP1 和 MvitGOBP2 与丁酸丁酯、柠檬烯等 17 种植物挥发性气味分子都具有亲和力(Zhou *et al.*, 2015);草地

螟 *Loxostege sticticalis* (L.) 的 LstiGOBP2 能够与 α -紫罗兰酮、 β -紫罗兰酮、1-己醇和 1-庚醇等强烈结合(Yin *et al.*, 2012);甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 的 SexiGOBP1 和 SexiGOBP2 都能与 β -紫罗兰酮和亚油酸有很好的结合,且 SexiGOBP2 与植物挥发物金合欢醇、橙花叔醇、油酸等的结合能力较强(Liu *et al.*, 2014);斜纹夜蛾的 SlitGOBP2 与橙花叔醇、金合欢烯、油酸和 2-十五烷酮等气味挥发物结合能力较强(Liu *et al.*, 2015)。

在 OBPs 研究初期,人们认为昆虫 GOBPs 和 PBP 分别结合寄主植物挥发物和性信息素,随着研究进一步深入,人们发现它们的功能界限并没有那么明显,PBP 也可以与普通的植物气味挥发物结合,GOBPs 不仅能与寄主植物挥发物特异性结合,而且能够与昆虫的性信息素高度结合。如在家蚕中,BmorGOBP2 不仅能结合寄主植物挥发物,还能与 BmorPBP1 发挥同样的功能,与性信息素蚕蛾醇有较强的结合能力(图 1)(He *et al.*, 2010);二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 的 CsupGOBP1 对 2 种寄主植物挥发物(金合欢醇和油酸)有高结合能力,CsupGOBP2 对 5 种挥发物((+)-雪松醇、金合欢醇、香叶烯、 β -紫罗兰酮和亚油酸)有较强结合力,而 CsupGOBP1 和 CsupGOBP2 都能与 3 种主要性信息素顺-11-十六碳烯醛(Z11-16:Ald)、顺-9-十六碳烯醛(Z9-16:Ald)和顺-13-十八碳烯醛(Z13-18:Ald)高度结合(Khuhro *et al.*, 2017);甜菜夜蛾的 SexiGOBP2 与 5 种性信息素的结合能力比 SexiPBP1 与性信息素的结合更强(Liu *et al.*, 2014);脐橙螟 *Amyelois transitella* (Walker) 的 AtraGOBP2 与性信息素的主要成分顺,顺-11,13-十六碳二烯醛(Z11Z13-16Ald)有较强的结合能力,其亲和力可与信息素结合蛋白 AtraPBP1 相媲美(Liu *et al.*, 2010)。可见,GOBPs 在不同的昆虫中可能执行不同的功能,但总体上 GOBPs 不仅在昆虫识别寄主挥发物的过程中发挥着重要的作用,在性信息素的识别中也发挥着重要的作用,此外,昆虫 GOBPs 是否具有其他功能还有待进一步挖掘。

4 GOBPs 的进化起源、扩增与丢失

4.1 GOBPs 的进化起源

GOBPs 与 PBP 位于染色体相邻位置,通过一定的顺序排列形成了鳞翅目昆虫的一个特异的 GOBPs/PBP 亚家族基因簇,研究发现,家蚕的

GOBPs/PBPs 亚家族基因簇中的基因相似度很高,推测可能是来自同一祖先基因复制的结果(张升祥等,2010b; Zhou *et al.*, 2009)。研究者对鳞翅目昆虫 GOBPs/PBPs 亚家族基因簇中的基因在染色体上的位置关系进行研究时发现,GOBP1 距离其他 PBPs/GOBPs 较远,而 GOBP2 与 PBPs 彼此临近,位于同一条染色体上(图 3),说明这些基因可能起源于一个共同的祖先或由它们中的一个基因复制而来,但目前的研究仍未明确具体的起源方式。在烟草天蛾 *Manduca sexta* (L.) (Vogt *et al.*, 2015)、家蚕 (Gong *et al.*, 2009)、小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) (You *et al.*, 2013) 等鳞翅目昆虫中都存在这种现象,这也说明一些鳞翅目昆虫的 GOBP2 与 PBP 能够发生协同作用,在信息素识别中发挥重要功能。

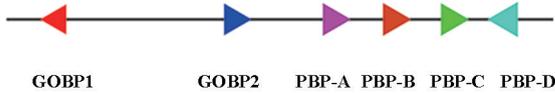


图 3 鳞翅目昆虫典型的 GOBPs/PBPs 亚家族基因簇在染色体上的排列位置示意图 (修改自 Yasukochi *et al.*, 2018)

Fig.3 Schematic diagram of the typical arrangement of the GOBPs/PBPs subfamily gene clusters on chromosome (revised from Yasukochi *et al.*, 2018)

4.2 GOBPs/PBPs 基因簇基因的扩增与丢失

研究发现,GOBPs/PBPs 基因簇极有可能已经在鳞翅目昆虫的共同祖先双孔亚目中发生了分化,尽管昆虫 GOBPs 经常出现谱系特异性的得失以及这些基因与邻近基因的倒位和易位现象,但基因的数量和顺序是基本保守的。小菜蛾 *Pxy1GOBP1* 和冬尺蠖蛾 *Operophtera brumata* (L.) *ObruGOBP1* 基因发生了拷贝并发生了易位现象 (Yasukochi *et al.*, 2018),苹果蠹蛾 *CpomGOBP* 基因发生了拷贝现象,发现了 3 个 *CpomGOBP* 基因 (Garczynski *et al.*, 2013)。然而在目前已有研究中 *GOBP* 基因的拷贝、易位现象只在这几个物种中被观察到,不具有普遍性,说明 *GOBPs* 基因还是相对保守的。

相对于 *GOBPs*,鳞翅目昆虫的 *PBPs* 基因更易发生丢失现象,这可能与 *GOBPs* 基因的功能多元化有关,逐渐取代了 *PBP* 基因的功能。研究表明,*PBP-B* 基因在蛾类和蝶类昆虫中均易发生广泛的缺失现象,如草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (JE

Smith)、粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* (Hübner)、诗神袖蝶 *Heliconius melpomene* (L.)、暗脉菜粉蝶 *Pieris napi* (L.) 都发生了 *PBP-B* 基因的缺失现象 (Yasukochi *et al.*, 2018),意味着 *PBP-B* 基因的缺失并不一定会降低昆虫的适应度。而相对于蛾类来说,蝶类的 *PBP-A* 基因更易发生丢失现象,如帝王蝶 *Danaus plexippus* (L.)、诗神袖蝶、暗脉菜粉蝶等蝶类均发生了 *PBP-A* 基因的丢失现象,仅在弄蝶科的 *Lerema accius* (Smith) 和凤蝶科的柑橘凤蝶 *Papilio xuthus* L. 中发现 *PBP-A* 基因的存在,而在柑橘凤蝶中 *PBP-A* 基因位于远离 GOBPs/PBPs 基因簇的位置,这增加了其不再作为信息素结合蛋白发挥作用的可能性 (Yasukochi *et al.*, 2018)。推测主要原因是在长期的进化过程中,蝶类主要在白天进行活动,而蛾类主要在夜晚进行活动,导致蝶类的视觉不断进化,在两性交配过程中原来嗅觉发挥的主导作用在进化中偏向于视觉,而 *PBP-A* 主要作用为识别性信息素,以供雄虫快速寻找雌虫进行交配,在蝶类视觉的进化过程中,逐渐发生了丢失现象。因此,推测不同物种中 GOBPs/PBPs 基因簇中基因的拷贝、丢失、易位等现象(图 4)极可能与物种间的 GOBPs/PBPs 功能分化有关。

5 GOBPs 在害虫监测和防治方面的应用前景

由于 OBP 具有多元化、稳定、易通过重组方式获得,以及配体选择等特性,昆虫 OBP 在研制生物传感器或电子鼻等领域越来越受到关注 (Barbosa *et al.*, 2018; Cave *et al.*, 2019; Pelosi *et al.*, 2018)。如 Dimitratos *et al.* (2019) 利用冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* Giles 的 AgamOBP1 与大肠杆菌 *Escherichia coli* 代谢物吡啶特异结合的特性,开发了一种体外高敏度检测水中大肠杆菌的生物传感器。Lu *et al.* (2015) 基于橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel) 的气味结合蛋白 BdorOBP2 和交叉电极开发出了可高灵敏度检测乙酸异戊酯、叶茄酮和苯甲醛的传感器。Larisika *et al.* (2015) 基于意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* Spinola 的气味结合蛋白 AmelOBP14 设计了一种嗅觉生物传感器,用于实时监测对蜜蜂有吸引力的各种气味物质。基于棉铃虫的气味结合蛋白 HarmOBP7 来源的短肽链 HarmOBPP4 开发的生物传感器能够准确识别辛醛、乙醛,以及苯甲醛 (Wasilewski *et al.*, 2019)。

OBPs 基因在与气味分子的结合及传递过程中

起着至关重要的作用,决定了昆虫对化学信号刺激一定程度的响应,因此,功能性 OBPs 可以作为筛选昆虫引诱剂或趋避剂的分子靶点。研究表明,OBPs 与气味分子的结合取决于它们的三维结构及构象,同一 OBP 可与一类结构和理化性质相似的气味化合物结合 (Liu *et al.*, 2019; Santana *et al.*, 2018)。基于此,科学家们提出了计算反向化学生态学的概念,基于 OBPs 基因的结构和功能之间的关系,利用同源建模和分子对接等技术手段和方法,通过计算机快速准确筛选配体小分子,达到以 OBPs 基因为靶标的害虫防治目的 (Venthur & Zhou, 2018), 并成功应用于筛选昆虫行为调节剂的活性化合物。如以致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* Say 气味结合蛋白 CquiOBP1 为分子靶标,筛选与其结合能力较强的非天然配体,成功地筛选出以一定比例混合的壬

醛、三甲胺组分,并已实现商品化产卵引诱剂 (Leal *et al.*, 2008)。研究发现,豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* Harris ApisOBP3 结合报警信息素 (E)- β -法尼烯 (EBF) (Qiao *et al.*, 2009), 后来通过 EBF 与 ApisOBP3 配体识别区域的基团与噻虫啉的杀虫基团融合,成功地合成了对蚜虫具有驱避和杀虫双重作用的化合物 (Sun *et al.*, 2011)。这种基于计算反向化学生态学的理论,通过计算机模拟的方法,重构 OBPs 的三维结构模型并通过分子对接的方法来筛选气味化合物,与之前的传统化学生态学中利用试错筛选方法相比,大大减少了气味候选化合物的数量,缩短筛选周期并降低了筛选成本。目前 GOBPs 在害虫防治中的应用尚未有明确报道,但 GOBPs 是鳞翅目昆虫气味结合蛋白中的重要亚家族,相信 GOBPs 将是害虫防治的一个重要靶点。

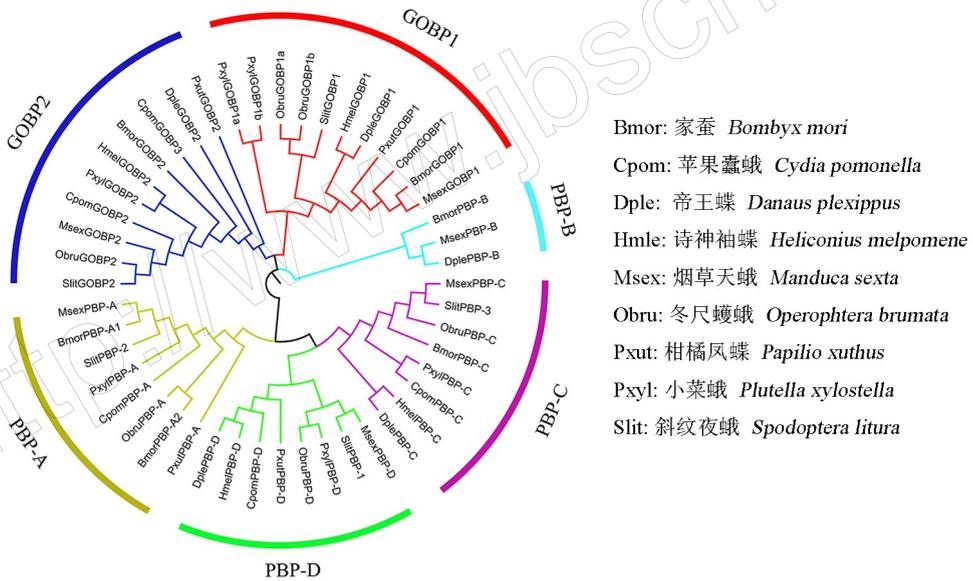


图 4 鳞翅目昆虫 GOBP/PBP 系统发育树 (修改自 Vogt *et al.*, 2015)

Fig.4 Phylogenetic tree of Lepidoptera GOBP/PBP (revised from Vogt *et al.*, 2015)

6 小结与展望

近年来,昆虫嗅觉领域的研究取得了显著进展,特别是对于较早发现的 PBP 研究较为深入,但对于 GOBPs 的研究相对较少。而 GOBPs 的分子特征、结构、生理功能、进化等方面仍然是昆虫嗅觉发展中的关键问题,对 GOBPs 的研究不仅能够促进人们对昆虫与植物化学通讯等生态学问题有更深入的理解,进一步揭示昆虫的化学感受机制,也可以为研制昆虫引诱剂、趋避剂等绿色高效的防治产品提供更多思路。基于 GOBPs 结构和功能之间的关系,利

用“计算反向化学生态学”的理念,通过同源建模和分子对接等计算机技术来进行高通量筛选与 OBPs 结合的最佳配体的方法越来越受到研究者的青睐,可为害虫的高效绿色防治技术的发展提供可靠依据。除在嗅觉方面发挥功能以外,GOBPs 也可在生物传感器和电子鼻等研发领域展现优势,利用 GOBPs 与害虫信息素结合的特点,发展出特异识别害虫的电子鼻等,可用于害虫或入侵物种的监测以及为进出境检验检疫提供新思路 and 新技术,值得人们进一步研究 (Cave *et al.*, 2019)。

参考文献

- 杜亚丽, 徐凯, 赵慧婷, 刘玉玲, 牛庆生, 姜玉锁, 2020. 昆虫气味结合蛋白的研究进展. *昆虫学报*, 63(3): 365-380.
- 郭晓洁, 陈炳翰, 杨云惠, 申建梅, 2018. 斜纹夜蛾普通气味结合蛋白基因 *SluGOBP2* 的时空表达分析. *南方农业学报*, 49(10): 1970-1974.
- 黄广振, 2019. 小地老虎普通气味结合蛋白 GOBP1 和 GOBP2 的表达及功能分化研究. 硕士学位论文. 保定: 河北农业大学.
- 纪萍, 刘靖涛, 谷少华, 朱晓强, 张永军, 郭予元, 2013. 绿盲蝽气味结合蛋白 *AlucOBP7* 的表达及气味结合特性. *昆虫学报*, 56(6): 575-583.
- 金俊彦, 张亚楠, 杨科, 高建清, 董双林, 2014. 大螟 2 个普通气味结合蛋白基因的分子克隆及表达动态分析. *南京农业大学学报*, 37(1): 87-93.
- 刘柳, 2019. 沙棘木蠹蛾普通气味结合蛋白的结构与功能分析. 硕士学位论文. 北京: 北京林业大学.
- 刘乃勇, 2015. 甜菜夜蛾和斜纹夜蛾 PBP/GOBP 的功能分化研究. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学.
- 缪森, 张龙, 王丽红, 2003. 昆虫气味结合蛋白研究进展. *云南大学学报*, 25(增刊): 161-165.
- 任珍珍, 柳晓磊, 胡美英, 2010. 昆虫嗅觉相关蛋白的结构和功能. *中国生物化学与分子生物学报*, 26(6): 531-537.
- 张升祥, 徐世清, 王更先, 周晓玲, 王桂花, 崔为正, 2010a. 家蚕普通气味结合蛋白基因的表达及分子进化研究. *蚕业科学*, 36(4): 610-618.
- 张升祥, 张瑶, 徐世清, 王更先, 胡增娟, 赵春晓, 崔为正, 2010b. 家蚕蛹和成虫期 GOBP/PBP 亚家族基因簇基因定位与表达分析. *昆虫学报*, 53(10): 1069-1076.
- ACIN P, CARRASCAL M, ABIAN J, GUERRERO A, QUERO C, 2009. Expression of differential antennal proteins in males and females of an important crop pest, *Sesamia nonagrioides*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39(1): 11-19.
- BARBOSA A J M, OLIVEIRA A R, ROQUE A C A, 2018. Protein-and peptide-based biosensors in artificial olfaction. *Trends in Biotechnology*, 36(12): 1244-1258.
- BENTON R, VANNICE K S, GOMEZ-DIAZ C, VOSSHALL L B, 2009. Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*. *Cell*, 136(1): 149-162.
- BREER H, KRIEGER J, RAMING K, 1990. A novel class of binding proteins in the antennae of the silk moth *Antheraea pernyi*. *Insect Biochemistry*, 20(7): 735-740.
- CAVE J W, WICKISER J K, MITROPOULOS A N, 2019. Progress in the development of olfactory-based bioelectronic chemosensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 123: 211-222.
- DANTY E, ARNOLD G, HUET J C, HUET D, MASSON C, PERNOLLET J C, 1998. Separation, characterization and sexual heterogeneity of multiple putative odorant-binding proteins in the honeybee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidea). *Chemical Senses*, 23(1): 83-91.
- DIMITRATOS S D, HOMMEL A S, KONRAD K D, SIMPSON L M, WU-WOODS J J, WOODS D F, 2019. Biosensors to monitor water quality utilizing insect odorant-binding proteins as detector elements. *Biosensors*, 9(2): 62.
- GARCZYNSKI S F, COATES B S, UNRUH T R, SCHAEFFER S, JIWAN D, KOEPKE T, DHINGRA A, 2013. Application of *Cydia pomonella* expressed sequence tags: identification and expression of three general odorant binding proteins in codling moth. *Insect Science*, 20(5): 559-574.
- GONG D P, ZHANG H J, ZHAO P, XIA Q Y, XIANG Z H, 2009. The odorant binding protein gene family from the genome of silkworm, *Bombyx mori*. *BMC Genomics*, 10: 332.
- GONG Z J, ZHOU W W, YU H Z, MAO C G, ZHANG C X, CHENG J A, ZHU Z R, 2006. Cloning, expression and functional analysis of a general odorant-binding protein 2 gene of the rice striped stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). *Insect Molecular Biology*, 18(3): 405-417.
- HE X, TZOTZOS G, WOODCOCK C, PICKETT J A, HOOPER T, FIELD L M, ZHOU J J, 2010. Binding of the general odorant binding protein of *Bombyx mori* BmorGOBP2 to the moth sex pheromone components. *Journal of Chemical Ecology*, 36(12): 1293-1305.
- HORST R, DAMBERGER F, LUGINBUHL P, GUNTERT P, PENG G, NIKONOVA L, LEAL W S, WUTHRICH K, 2001. NMR structure reveals intramolecular regulation mechanism for pheromone binding and release. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(25): 14374-14379.
- HU P, TAO J, CUI M, GAO C, LU P, LUO Y, 2016. Antennal transcriptome analysis and expression profiles of odorant binding proteins in *Eogystia hippophaecolus* (Lepidoptera: Cossidae). *BMC Genomics*, 17: 651.
- HUANG G Z, LIU J T, ZHOU J J, WANG Q, DONG J Z, ZHANG Y J, LI X C, LI J, GU S H, 2018. Expressional and functional comparisons of two general odorant binding proteins in *Agrotis ipsilon*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 98: 34-47.
- KHUHRO S A, LIAO H, DONG X T, YU Q, YAN Q, DONG S L, 2017. Two general odorant binding proteins display high bindings to both host plant volatiles and sex pheromones in a pyralid moth *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae).

- Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(2) : 521–528.
- LARISKA M, KOTLOWSKI C, STEININGER C, MASTROGIACOMO R, PELOSI P, SCHUTZ S, PETEU S F, KLEBER C, REINER-ROZMAN C, NOWAK C, KNOLL W, 2015. Electronic olfactory sensor based on *A. mellifera* odorant-binding protein 14 on a reduced graphene oxide field-effect transistor. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 54: 13245–13248.
- LAUE M, STEINBRECHT R A, ZIEGELBERGER G, 1994. Immunocytochemical localization of general odorant-binding protein in olfactory sensilla of the silkworm *Antheraea polyphemus*. *Naturwissenschaften*, 81: 178–180.
- LEAL W S, BARBOSA R M R, XU W, ISHIDA Y, SYED Z, LATTE N, CHEN A M, MORGAN T I, CORNEL A J, FURTADO A, 2008. Reverse and conventional chemical ecology approaches for the development of oviposition attractants for *Culex Mosquitoes*. *PLoS ONE*, 3(8) : e3045.
- LEAL W S, CHEN A M, ISHIDA Y, CHIANG V P, ERICKSON M L, MORGAN T I, TSURUDA J M, 2005. Kinetics and molecular properties of pheromone binding and release. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(15) : 5386–5391.
- LI R T, HUANG L Q, DONG J F, WANG C Z, 2020. A moth odorant receptor highly expressed in the ovipositor is involved in detecting host-plant volatiles. *Elife*, 9: e53706.
- LIU H W, DUAN H X, WANG Q, XIAO Y, WANG Q, XIAO Q, SUN L, ZHANG Y J, 2019. Key amino residues determining binding activities of the odorant binding protein alucOBP22 to two host plant Terpenoids of *Apolysus lucorum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(21) : 5949–5956.
- LIU N Y, YANG F, YANG K, HE P, NIU X H, XU W, ANDERSON A, DONG S L, 2014. Two subclasses of odorant-binding proteins in *Spodoptera exigua* display structural conservation and functional divergence. *Insect Molecular Biology*, 24(2) : 167–182.
- LIU N Y, YANG K, LIU Y, XU W, ANDERSON A, DONG S L, 2015. Two general-odorant binding proteins in *Spodoptera litura* are differentially tuned to sex pheromones and plant odors. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 180: 23–31.
- LIU Z, VIDAL D M, SYED Z, ISHIDA Y, LEAL W S, 2010. Pheromone binding to general odorant-binding proteins from the navel orangeworm. *Journal of Chemical Ecology*, 36(7) : 787–794.
- LU Y L, YAO Y, ZHANG Q, ZHANG D M, ZHUANG S L, LI H L, LIU Q J, 2015. Olfactory biosensor for insect semiochemicals analysis by impedance sensing of odorant-binding proteins on interdigitated electrodes. *Biosensors & Bioelectronics*, 67: 662–669.
- MARTIN J P, BEYERLEIN A, DACKS A M, REISENMAN C E, RIFFELL J A, LEI H, HILDEBRAND J G, 2011. The neurobiology of insect olfaction: sensory processing in a comparative context. *Progress in Neurobiology*, 95(3) : 427–447.
- PELOSI P, MASTROGIACOMO R, IOVINELLA I, TUCCORI E, PERSAUD K C, 2014. Structure and biotechnological applications of odorant-binding proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(1) : 61–70.
- PELOSI P, ZHOU J J, BAN L P, CALVELLO M, 2006. Soluble proteins in insect chemical communication. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 63(14) : 1658–1676.
- PELOSI P, ZHU J, KNOLL W, 2018. Odorant-binding proteins as sensing elements for odour monitoring. *Sensors*, 18(10) : 3248.
- QIAO H L, TUCCORI E, HE X L, GAZZANO A, FIELD L, ZHOU J J, PELOSI P, 2009. Discrimination of alarm pheromone (E)-beta-farnesene by aphid odorant-binding proteins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39(5/6) : 414–419.
- SANDLER B H, NIKONOVA L, LEAL W S, CLARDY J, 2000. Sexual attraction in the silkworm moth: structure of the pheromone-binding-protein-bombykol complex. *Chemistry & Biology*, 7(2) : 143–151.
- SANTANA I B, LEITE F H A, JUNIOR M C S, 2018. Identification of *Lutzomyia longipalpis* odorant binding protein modulators by comparative modeling, hierarchical virtual screening, and molecular dynamics. *Journal of Chemistry*, 2018(1) : 1–10.
- STEINBRECHT R A, 1996. Are odorant-binding proteins involved in odorant discrimination? *Chemical Senses*, 21(6) : 719–727.
- STEINBRECHT R A, LAUE M, ZIEGELBERGER G, 1995. Immunolocalization of pheromone-binding protein and general odorant-binding protein in olfactory sensilla of the silk moths *Antheraea* and *Bombyx*. *Cell and Tissue Research*, 282: 203–217.
- SUN J S, XIAO S, CARLSON J R, 2018. The diverse small proteins called odorant-binding proteins. *Royal Society Open Biology*, 8(12) : 180208.
- SUN L, WANG Q, ZHANG Y X, TU X H, YAN Y T, WANG Q, DONG K, ZHANG Y J, XIAO Q, 2019. The sensilla trichodea-biased EobIPBP1 binds sex pheromones and green leaf volatiles in *Ectopis obliqua* Prout, a geometrid moth pest that uses type-II sex pheromones. *Journal of Insect Physiology*, 116: 17–24.
- SUN Y F, QIAO H L, LING Y, YANG S X, RUI C H, PELOSI P, YANG X L, 2011. New analogues of (e)-beta-far-

- nesene with insecticidal activity and binding affinity to aphid odorant-binding proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6): 2456–2461.
- TIAN Z Q, QIU G S, LI Y Y, ZHANG H J, YAN W T, YUE Q, SUN L N, 2019. Molecular characterization and functional analysis of pheromone binding proteins and general odorant binding proteins from *Carposina sasakii* Matsumura (Lepidoptera: Carposinidae). *Pest Management Science*, 75(1): 234–245.
- VENTHUR H, ZHOU J J, 2018. Odorant receptors and odorant-binding proteins as insect pest control targets: a comparative analysis. *Frontiers in Physiology*, 9: 1163.
- VOSSHALL L B, STENSMYR M C, 2005. Wake up and smell the pheromones. *Neuron*, 45(2): 179–181.
- VOGT R G, GROBE-WILDE E, ZHOU J J, 2015. The Lepidoptera odorant binding protein gene family: gene gain and loss within the GOBP/PBP complex of moths and butterflies. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 62: 142–153.
- VOGT R G, RIDDIFORD L M, 1981. Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, 293: 161–163.
- VOGT R G, ROGERS M E, FRANCO M, SUN M, 2002. A comparative study of odorant binding protein genes: differential expression of the PBP1-GOBP2 gene cluster in *Manduca sexta* (Lepidoptera) and the organization of OBP genes in *Drosophila melanogaster* (Diptera). *The Journal of Experimental Biology*, 205(Pt 6): 719–744.
- WANG Q, WANG Q, LI H Y, SUN L, ZHANG D Y, ZHANG Y J, 2020. Sensilla localization and sex pheromone recognition of odorant binding protein OBP4 in the mirid plant bug *Adelphocoris lineolatus* (Goeze). *Journal of Insect Physiology*, 121: 104012.
- WASILEWSKI T, SZULCZYNSKI B, WOJCIECHOWSKI M, KAMYSZ W, GEBICKI J, 2019. A highly selective biosensor based on peptide directly derived from the HarmOBP7 aldehyde binding site. *Sensors*, 19(19): 4284.
- XIAO S, SUN J S, CARLSON J R, 2019. Robust olfactory responses in the absence of odorant binding proteins. *Elife*, 8: e51040.
- YAO Q, XU S, DONG Y Z, LU K, CHEN B X, 2016. Identification and characterisation of two general odourant-binding proteins from the litchi fruit borer, *Conopomorpha sinensis* Bradley. *Pest Management Science*, 72(5): 877–887.
- YASUKOCHI Y, YANG B, FUJIMOTO T, SAHARA K, MATSUO T, ISHIKAWA Y, 2018. Conservation and lineage-specific rearrangements in the GOBP/PBP gene complex of distantly related ditrysian Lepidoptera. *PLoS ONE*, 13(2): e0192762.
- YIN J, FENG H, SUN H, XI J, CAO Y, LI K, 2012. Functional analysis of general odorant binding protein 2 from the meadow moth, *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *PLoS ONE*, 7(3): e33589.
- YOU M S, YUE Z, HE W Y, YANG X H, YANG G, XIE M, ZHAN D L, BAXTER S W, VASSEUR L, GURR G M, DOUGLAS C J, BAI J, WANG P, CUI K, HUANG S G, LI X C, ZHOU Q, WU Z Y, CHEN Q L, LIU C H, WANG B, LI X J, XU X F, LU C X, HU M, DANNEY J W, SMITH S M, CHEN M S, XIA X F, TANG W Q, KE F, ZHENG D D, HU Y L, SONG F Q, YOU Y C, MA X L, PENG L, ZHENG Y K, LIANG Y, CHEN Y Q, YU L Y, ZGANG Y N, LIU Y Y, LI G Q, FANG L, LI J X, ZHOU X, LUO Y D, GOU C Y, WANG J Y, WANG J, YANG H M, WANG J, 2013. A heterozygous moth genome provides insights into herbivory and detoxification. *Nature Genetics*, 45(2): 220–225.
- ZHANG G H, LI Y P, XU X L, CHEN H, WU J X, 2012. Identification and characterization of two general odorant binding protein genes from the oriental fruit moth, *Grapholita Molesta* (Busck). *Journal of Chemical Ecology*, 38(4): 427–436.
- ZHANG S G, MAIDA R, STEINBRECHT R A, 2001. Immunolocalization of odorant-binding proteins in noctuid moths (Insecta, Lepidoptera). *Chemical Senses*, 26(7): 885–896.
- ZHANG T T, GU S H, WU K M, ZHANG Y J, GUO Y Y, 2011. Construction and analysis of cDNA libraries from the antennae of male and female cotton bollworms *Helicoverpa armigera* (Hubner) and expression analysis of putative odorant-binding protein genes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 407(2): 393–399.
- ZHOU J, ZHANG N, WANG P, ZHANG S C, LI D Q, LIU K Y, WANG G X, WANG X P, AI H, 2015. Identification of host-plant volatiles and characterization of two novel general odorant-binding proteins from the legume pod borer, *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae). *PLoS ONE*, 10(10): e0141208.
- ZHOU J J, ROBERTSON G, HE X L, DUFOUR S, HOOPER A M, PICKETT J A, KEEP N H, FIELD L M, 2009. Characterisation of *Bombyx mori*, odorant-binding proteins reveals that a general odorant-binding protein discriminates between sex pheromone components. *Journal of Molecular Biology*, 389(3): 529–545.
- ZWIEBEL L J, TAKKEN W, 2004. Olfactory regulation of mosquito-host interactions. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34(7): 645–652.